

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平4-368384

(43) 公開日 平成4年(1992)12月21日

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 D 471/04	1 0 2	8829-4C		
A 6 1 K 31/435	A B C	7252-4C		

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全 16 頁)

(21) 出願番号	特願平3-144940	(71) 出願人	000003159 東レ株式会社 東京都中央区日本橋室町2丁目2番1号
(22) 出願日	平成3年(1991)6月17日	(72) 発明者	長瀬 博 神奈川県鎌倉市手広1111番地 東レ株式会社基礎研究所内
		(72) 発明者	今村 芳文 神奈川県鎌倉市手広1111番地 東レ株式会社基礎研究所内
		(72) 発明者	河合 孝治 神奈川県鎌倉市手広1111番地 東レ株式会社基礎研究所内

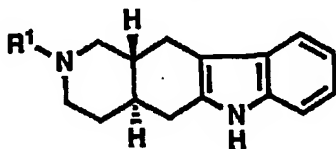
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 カルバゾール誘導体および免疫抑制剤

(57) 【要約】

【目的】 既存または開発中の免疫抑制剤とは異なる、新規な免疫抑制剤を提供する。

* 【構成】 一般式 (I)
【化1】



〔R¹ は炭素数4~7のシクロアルキルアルキル、炭素数5~7のシクロアルケニルアルキル、炭素数4~5のアルケニル、またはアリルを表し、一般式 (I) は (+) 体, (-) 体, (±) 体を含む〕で表されるカル

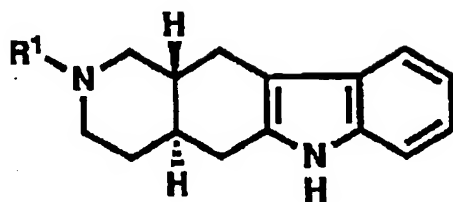
バゾール誘導体およびその薬理学的に許容される塩、また一般式 (I) に代表される誘導体を有効成分とする免疫抑制剤。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式 (I)

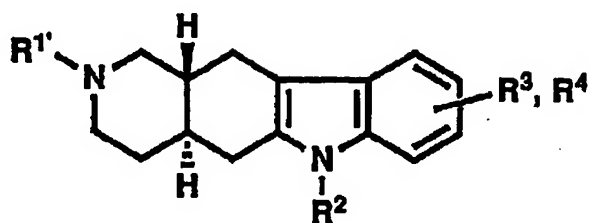
【化1】



(I)

10

*



(II)

【式中、R¹ は水素、炭素数1～5のアルキル、炭素数4～7のシクロアルキルアルキル、炭素数5～7のシクロアルケニルアルキル、炭素数6～10のアリール、炭素数7～15のアラルキル、炭素数1～5のアルケニル、フアニル-2-イルアルキル、チエニル-2-イルアルキル、または炭素数1～5のアルカノイルを表し、R² は水素、炭素数1～5のアルキル、フェニル、またはベンジルを表し、R³、R⁴ は独立して水素、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素、シアノ、ニトロ、炭素数1～5のアルキル、炭素数1～5のハロゲンアルキル、炭素数1～5のアルコキシ、アミノ、炭素数1～5のアルキルアミノ、カルボキシ、または炭素数1～5のアルコキシカルボニルを表し、一般式 (II) は (+) 体、(-) 体、(±) 体を含む】で示されるカルバゾール誘導体またはその薬理学的に許容される塩を有効成分とする免疫抑制剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はカルバゾール誘導体またはそれらの薬理学的に許容される塩を有効成分とする免疫抑制剤に関する。

【0002】

【従来の技術】 免疫抑制剤は、臓器移植や自己免疫疾患、免疫学的機序が関与する様々な疾患で広くその有効性が認められている。現在数多く使用されている免疫抑制剤のなかで、シクロスポリンAは特異な細胞レベルでの作用を持つことが知られ、特に臓器移植の分野で貢献してきた。また1984年、シクロスポリンAより約100倍強力な免疫抑制剤としてFK-506が登場し、シクロスポリンAの短所を補うものとして期待されてい

* 【式中、R¹ は炭素数4～7のシクロアルキルアルキル、炭素数5～7のシクロアルケニルアルキル、炭素数4～5のアルケニル、またはアリルを表し、一般式 (I) は (+) 体、(-) 体、(±) 体を含む】カルバゾール誘導体またはその薬理学的に許容される塩。

【請求項2】 一般式 (II)

【化2】

る。しかし、これらの免疫抑制剤には副作用があることが明らかになり、シクロスポリンAでは腎毒性、FK-506では食欲不振による体重減少や血管病変が認められている。また、これらの免疫抑制剤は体液性免疫も抑制するため、依然として移植手術後の感染症の問題は未解決のままである。

【0003】

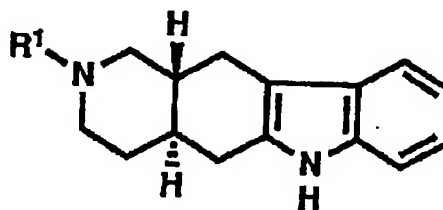
【発明が解決しようとする課題】 既存または開発中の免疫抑制剤の持つ上記のような副作用、術後感染症の問題を解決するため、低毒性かつ臓器選択性の高い薬剤が求められている。本発明は、毒性が低く、経口剤としても十分な免疫抑制活性を有し、アルカロイド構造をした新規で理想的な免疫抑制剤を提供することを目的とする。

【0004】

【課題を解決するための手段】 上記課題を解決するため鋭意研究した結果、新規な免疫抑制剤を発見するに至った。すなわち、本発明は一般式 (I)

【0005】

【化3】

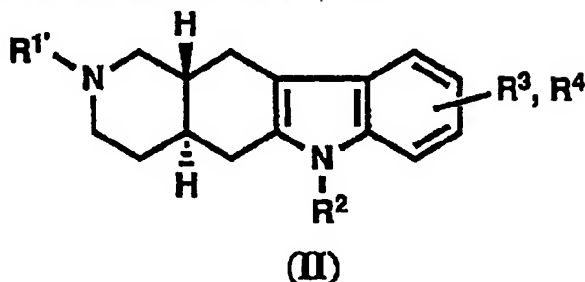


(I)

【0006】 【式中、R¹ は炭素数4～7のシクロアルキルアルキル、炭素数5～7のシクロアルケニルアルキル、炭素数4～5のアルケニル、またはアリルを表し、一般式 (I) は (+) 体、(-) 体、(±) 体を含む】カルバゾール誘導体またはその薬理学的に許容される塩。

ル、炭素数4～5のアルケニル、またはアリルを表し、
一般式(I)は(+)体、(-)体、(±)体を含む]
カルバゾール誘導体またはその薬理学的に許容される塩*

*および一般式(II)
【0007】
【化4】



【0008】【式中、R^{1'}は水素、炭素数1～5のアルキル、炭素数4～7のシクロアルキルアルキル、炭素数5～7のシクロアルケニルアルキル、炭素数6～10のアリール、炭素数7～15のアラルキル、炭素数1～5のアルケニル、フラニル-2-イルアルキル、チエニル-2-イルアルキル、または炭素数1～5のアルカノイルを表し、R²は水素、炭素数1～5のアルキル、フェニル、またはベンジルを表し、R³、R⁴は独立して水素、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素、シアノ、ニトロ、炭素数1～5のアルキル、炭素数1～5のハロゲノアルキル、炭素数1～5のアルコキシ、アミノ、炭素数1～5のアルキルアミノ、カルボキシ、または炭素数1～5のアルコキシカルボニルを表す、一般式(II)は(+)体、(-)体、(±)体を含む】で示されるカルバゾール誘導体またはその薬理学的に許容される塩を有効成分とする免疫抑制剤である。

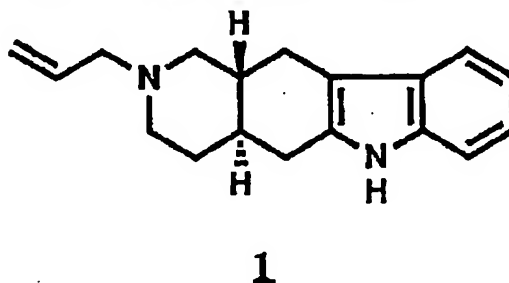
【0009】薬理学的に好ましい塩としては塩酸塩、硫酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩などの無機酸塩、酢酸塩、乳酸塩、クエン酸塩、シュウ酸塩、グルタル酸塩、リンゴ酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、安息香酸塩、フタル酸塩などの有機カルボン酸塩、メタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩などの有機スルホン酸塩が挙げられ、なかでも塩酸塩、リン酸塩、酒石酸塩、メタンスルホン酸塩が好まれるが、もちろんこれらに限定されるものではない。

【0010】具体的には、一般式(II)で表される本発明

※明の免疫抑制剤の有効成分であるカルバゾール誘導体のうち、R^{1'}としては水素、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、シクロプロピルメチル、シクロブチルメチル、シクロペンチルメチル、シクロヘキシルメチル、シクロブテニルメチル、シクロペンテニルメチル、シクロヘキセニルメチル、フェニル、ナフチル、ベンジル、フェニルエチル、アリル、プロベニル、ブテニル、ペンテニル、フラニル-2-イルアルキル、チエニル-2-イルアルキル、シクロプロピルカルボニル、R²としては水素、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、フェニル、ベンジル、R³、R⁴としては水素、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素、シアノ、ニトロ、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、トリフルオロメチル、メトキシ、エトキシ、プロボキシ、ブトキシ、ペントキシ、アミノ、ジメチルアミノ、カルボキシ、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロボキシカルボニル、ブトキシカルボニル、ペントキシカルボニルなどが挙げられる。これらのなかでも、特にR¹としてはシクロプロピルメチル、シクロブチルメチル、シクロペンチルメチル、シクロヘキシルメチル、シクロブテニルメチル、シクロペンテニルメチル、シクロヘキセニルメチル、アリル、ブテニル、ペンテニル、R³、R⁴としては水素のものが好ましい。

【0011】本発明の一般式(I)の化合物のうちR¹がアリルである化合物 1

【0012】
【化5】



【0013】を、2-アリル-1, 2, 3, 4, 4a α, 5, 11, 11a β-オクタヒドロ-6H-ピリド

【4, 3-b】カルバゾールと命名する。この命名法に従って本発明の新規化合物を具体的に挙げるならば、2

5

-シクロプロピルメチル-1, 2, 3, 4, 4aα,
 5, 11, 11aβ-オクタヒドロ-6H-ピリド
 [4, 3-b] カルバゾール、2-シクロブチルメチル
 -1, 2, 3, 4, 4aα, 5, 11, 11aβ-オク
 タヒドロ-6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾール、
 2-シクロペンチルメチル-1, 2, 3, 4, 4aα,
 5, 11, 11aβ-オクタヒドロ-6H-ピリド
 [4, 3-b] カルバゾール、2-シクロヘキシルメチ
 ル-1, 2, 3, 4, 4aα, 5, 11, 11aβ-オ
 クタヒドロ-6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾール、2-
 (1-シクロブテニルメチル) -1, 2, 3,
 4, 4aα, 5, 11, 11aβ-オクタヒドロ-6H
 -ピリド [4, 3-b] カルバゾール、2- (3-シク
 ロブテニルメチル) -1, 2, 3, 4, 4aα, 5, 1
 1, 11aβ-オクタヒドロ-6H-ピリド [4, 3-
 b] カルバゾール、2- (1-シクロペンテニルメチ
 ル) -1, 2, 3, 4, 4aα, 5, 11, 11aβ-
 オクタヒドロ-6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾー
 ル、2- (3-シクロペンテニルメチル) -1, 2,
 3, 4, 4aα, 5, 11, 11aβ-オクタヒドロ-
 6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾール、2- (4-
 シクロペンテニルメチル) -1, 2, 3, 4, 4aα,
 5, 11, 11aβ-オクタヒドロ-6H-ピリド
 [4, 3-b] カルバゾール、2- (1-シクロヘキセ
 ニルメチル) -1, 2, 3, 4, 4aα, 5, 11, 1
 1aβ-オクタヒドロ-6H-ピリド [4, 3-b] カ
 ルバゾール、2- (3-シクロヘキセニルメチル) -
 1, 2, 3, 4, 4aα, 5, 11, 11aβ-オクタ
 ヒドロ-6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾール、2

6

- (4-シクロヘキセニルメチル) -1, 2, 3, 4,
 4aα, 5, 11, 11aβ-オクタヒドロ-6H-ピ
 リド [4, 3-b] カルバゾール、2- (1-ブテニ
 ル) -1, 2, 3, 4, 4aα, 5, 11, 11aβ-
 オクタヒドロ-6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾー
 ル、2- (2-ブテニル) -1, 2, 3, 4, 4aα,
 5, 11, 11aβ-オクタヒドロ-6H-ピリド
 [4, 3-b] カルバゾール、2- (3-ブテニル) -
 1, 2, 3, 4, 4aα, 5, 11, 11aβ-オクタ
 ヒドロ-6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾール、2-
 (1-ペンテニル) -1, 2, 3, 4, 4aα, 5,
 11, 11aβ-オクタヒドロ-6H-ピリド [4, 3-
 b] カルバゾール、2- (2-ペンテニル) -1,
 2, 3, 4, 4aα, 5, 11, 11aβ-オクタヒド
 ロ-6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾール、2-
 (3-ペンテニル) -1, 2, 3, 4, 4aα, 5, 1
 1, 11aβ-オクタヒドロ-6H-ピリド [4, 3-
 b] カルバゾール、2- (4-ペンテニル) -1, 2,
 3, 4, 4aα, 5, 11, 11aβ-オクタヒドロ-
 6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾールなどが挙げら
 れるが、もちろんこれらに限られるものではない。

【0014】なお、本発明の一般式 (I), (II) に示
 される化合物は (+) 体、(-) 体、および (±) 体を
 包含する。

【0015】本発明の一般式 (II) の化合物は、具体的
 にはチャート1に示すような以下の方法によって得るこ
 とができる。

【0016】

【化6】

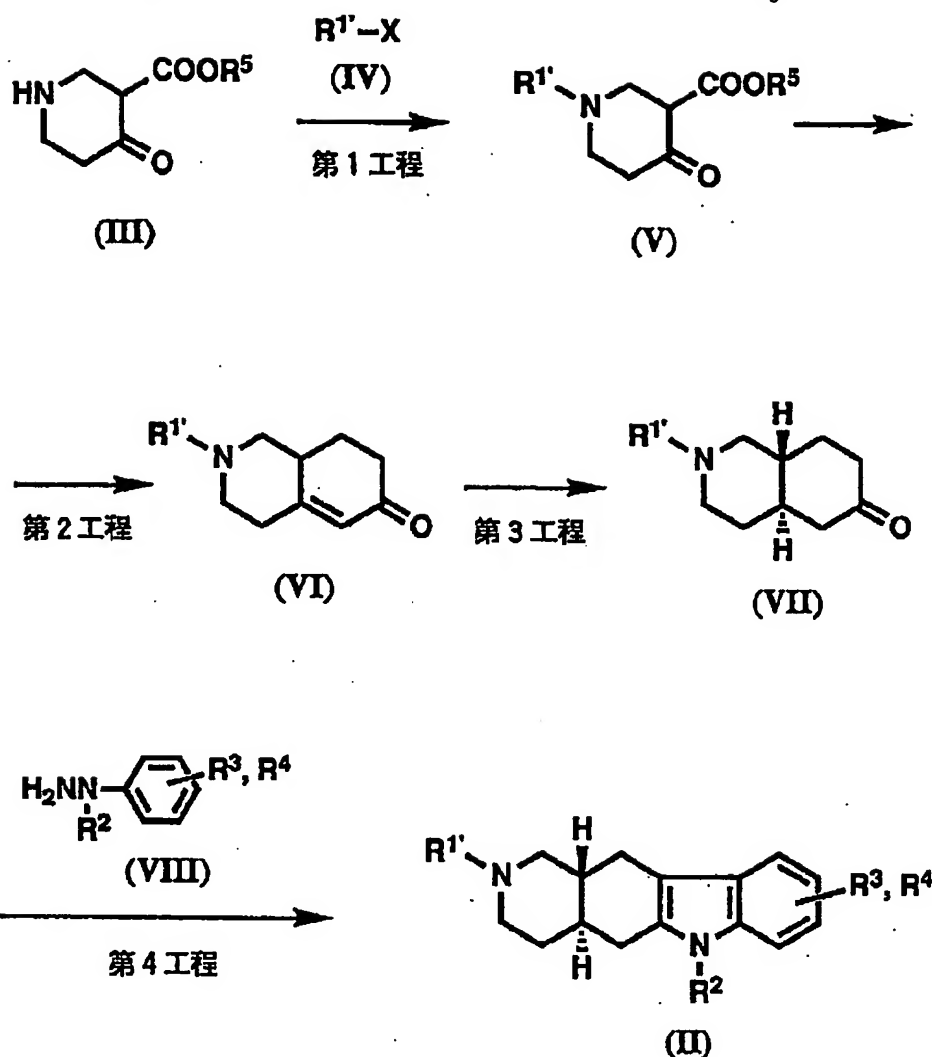


チャート1

【0017】第1工程は、一般式 (III) で示される化合物を溶媒に溶解し、塩基及びハロゲン化物 (IV) を加えて反応させ、二級アミンをアルキル化する工程である。原料として用いる化合物 (III) のうち、R⁵ として炭素数1~5のアルキル、及びベンジルのものが使用可能であるが、なかでもメチル、エチルのものが好まれ、特にエチルのものは市販されている。ハロゲン化物 (IV) の R^{1'} は前記定義と同じであり、Xとしては塩素、臭素、ヨウ素が用いられる。塩基としては、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸カルシウム、炭酸バリウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化バリウムなどの無機塩が用いられるが、なかでも炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウムが好まれる。溶媒とし

ては、DMF、DMSO、HMPAなどの双極性アプロティック系溶媒や、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノールなどのアルコール系溶媒が用いられ、なかでもDMF、DMSO、HMPAなどの双極性アプロティック系溶媒が好ましく、特にDMFが望ましい。添加物としてヨウ化ナトリウム、ヨウ化カリウムなどの金属ヨウ化物を用いると、より良い結果が得られる。反応温度としては、-50~100℃の範囲で実行可能であるが、特に-20~50℃で満足すべき結果が得られる。

【0018】第2工程は、一般式 (V) で示される化合物のメチルビニルケトンとの1, 4-付加反応、それに続く Robinson 環化反応と、同時に起こるエステルの加水分解、脱炭酸の工程である。最初の1, 4-付加反応

は、塩基存在下、一般式 (V) で示される化合物を溶媒に溶解し、メチルビニルケトンを加えて攪拌することで行われる。塩基としては、水素化ナトリウム、水素化カリウムなどの水素化金属類、あるいはナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、カリウムメトキシド、カリウムメトキシドなどの金属アルコキシドなどが用いられるが、通常は水素化ナトリウムで満足すべき結果が得られる。溶媒はベンゼン、トルエン、キシレンなどの芳香族炭化水素系溶媒や、エーテル、THF、DME、ジオキサンなどのエーテル系溶媒、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノールなどのアルコール系溶媒が用いられるが、なかでもベンゼン、トルエン、キシレンなどが芳香族炭化水素系溶媒が好ましく用いられ、特にトルエンが望ましい。反応温度は $-50 \sim 100^\circ\text{C}$ の範囲で実行可能であるが、特に $0 \sim 50^\circ\text{C}$ で満足すべき結果が得られる。次の Robinson 環化反応と、同時に起こるエステルの加水分解、脱炭酸の工程は、前工程で得られた 1, 4-付加物を溶媒に溶解し、塩基を加えて加熱攪拌することで行われる。塩基及び溶媒としては、ベンゼン、トルエン、キシレンなどの芳香族炭化水素系溶媒や、エーテル、THF、DME、ジオキサンなどのエーテル系溶媒中、あるいは水溶液中、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化バリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸カルシウム、炭酸バリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウムなどの無機塩が用いられるか、またはメタノール、エタノールなどのアルコール系溶媒中、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、カリウムメトキシド、カリウムエトキシドなどの金属アルコキシドが用いられるが、中でも水溶液中、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化バリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸カルシウム、炭酸バリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウムなどの無機塩が好ましく用いられ、通常は水酸化ナトリウム、水酸化カリウムで満足すべき結果が得られる。反応温度は $0 \sim 150^\circ\text{C}$ の範囲で実行可能であるが、特に $80 \sim 120^\circ\text{C}$ で満足すべき結果が得られる。

【0019】第3工程は、一般式 (VI) で示される化合物の共役エノン部に対する 1, 4-還元によるトランス-デカヒドロイソキノリン骨格構築の工程である。二重結合の還元法としては、触媒存在下、水素添加する方法も考えられるが、高立体選択的にトランス体を得るために液体アンモニア溶液中、溶解金属による Birch 還元条件が好ましく用いられる。具体的には、金属を溶解した液体アンモニア中に、下記のような共溶媒として用いるエーテル系溶媒に溶解した基質を加えて攪拌することで行われる。用いられる金属としては、リチウム、ナトリウム、カリウム、カルシウムなどが挙げられるが、なかでもリチウム、ナトリウムが好ましく、特にリチウムが望ましい。液体アンモニアに加えて共溶媒を用いて

もよく、通常はエーテル、THF、DME、ジオキサンなどのエーテル系溶媒が用いられるが、なかでも THF が望ましい。また、プロトン源として、1~3 当量のメタノール、エタノール、プロパノール、ブタノールなどのアルコールを加えてもよい。反応温度としては $-100 \sim -33^\circ\text{C}$ の範囲で実行可能であるが、特に $-80 \sim -33^\circ\text{C}$ で満足すべき結果が得られる。

【0020】第4工程は、一般式 (VII) で示される化合物に対して、酸触媒存在下、フェニルヒドラジン誘導体 (VIII) を用いた Fischer インドール合成の工程である。一般式 (VIII) において、 R^1 、 R^2 、 R^3 は前記定義と同じである。具体的には、一般式 (VII) で示される化合物をフェニルヒドラジン誘導体 (VIII) と共に溶媒に溶解し、酸を加えて加熱攪拌しながら反応を行い、反応混合物を放冷し、析出した結晶を濾過することにより一般式 (II) で示される化合物が塩として得られる。酸としては通常、塩酸、硫酸、リン酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、カンファースルホン酸などのプロトン酸、または塩化亜鉛などの Lewis 酸が用いられ、特に塩酸、メタンスルホン酸が望ましいが、もちろんこれらに限定されるものではない。溶媒としては、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノールなどのアルコール系溶媒、酢酸、プロピオン酸などの脂肪酸系溶媒、DMF、DMSO、HMPA などの双極性アプロティック系溶媒が挙げられるが、なかでもメタノール、エタノール、プロパノール、ブタノールなどのアルコール系溶媒が好ましく、特にエタノールが望ましい。反応温度は $0 \sim 250^\circ\text{C}$ の範囲が考えられるが、なかでも $20 \sim 150^\circ\text{C}$ の範囲で実行可能であり、特に $60 \sim 120^\circ\text{C}$ で満足すべき良い結果が得られる。一般式 (II) で示される化合物の塩フリーのアミンは、得られた塩を有機溶媒に懸濁して塩基の水溶液中で中和後、有機溶媒で抽出することによって得られる。また、この塩フリーのアミンを有機溶媒に溶解して酸を加えることにより、再び塩を得ることができる。ここで得られる塩としては、薬理学的に好ましい塩として塩酸塩、硫酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩などの無機酸塩、酢酸塩、乳酸塩、クエン酸塩、シュウ酸塩、グルタル酸塩、リンゴ酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、安息香酸塩、フタル酸塩などの有機カルボン酸塩、メタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩などの有機スルホン酸塩が挙げられ、なかでも塩酸塩、酒石酸塩、メタンスルホン酸塩が好まれるが、もちろんこれらに限定されるものではない。

【0021】以上のような4工程によって一般式 (II) で示される化合物が得られるが、第1工程において、一般式 (III) で示される化合物とハロゲン化物 (IV) との反応性が低い場合には、チャート2に示すように以下に記す別法によって一般式 (II') で示される化合物を

11

12

得ることができる。すなわち、一般式 (VII) で示される化合物のうち、 $R^{1'}$ がアリルまたはメチルである化合物を用いて $R^{1'}$ を R^7 -メチル基に変換することができ*

【0022】
【化7】

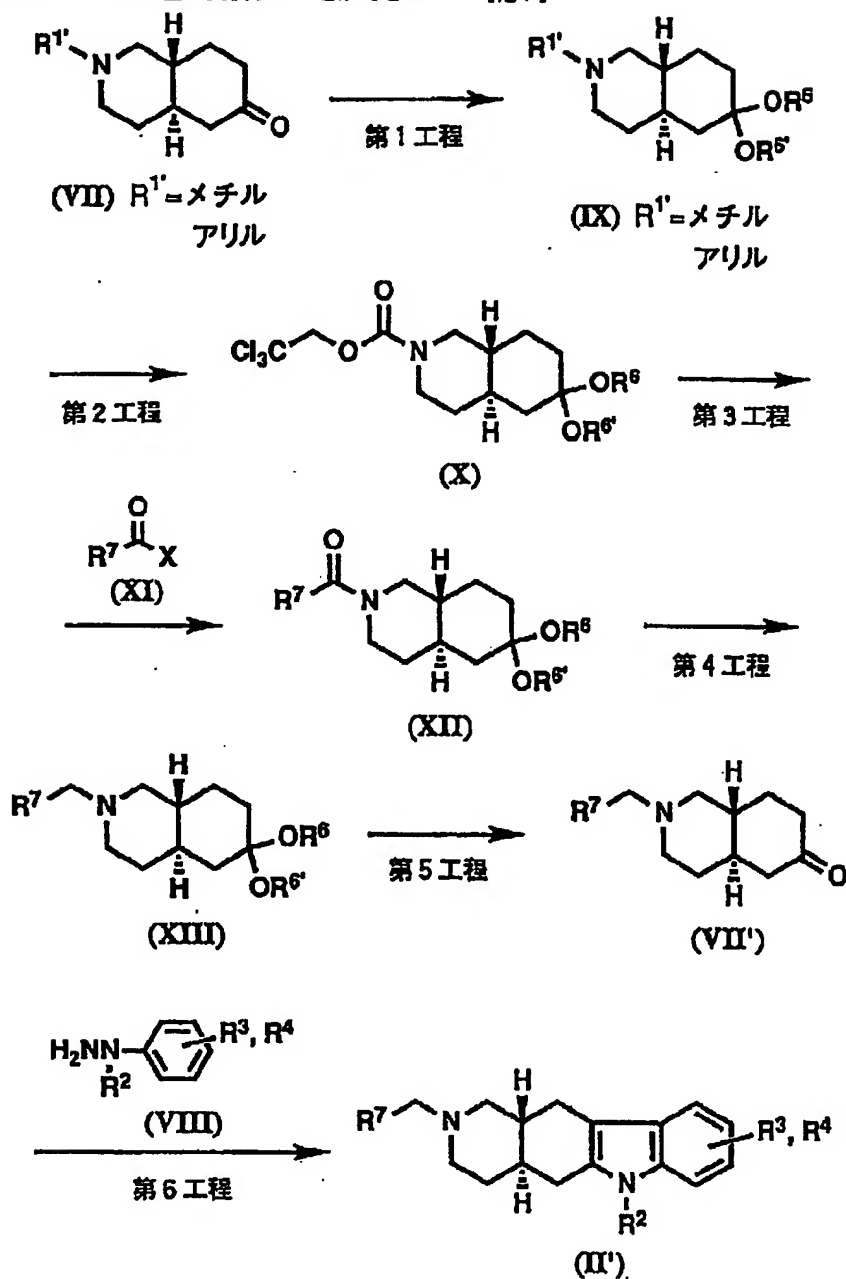


チャート2

【0023】第1工程は一般式 (VII) で示される化合物のうち、 $R^{1'}$ がアリルまたはメチル基である化合物のケトン部をアセタールとして保護する工程である。ここで R^6 、 $R^{6'}$ はメチル、エチル等の鎖状アルキル基を示すか、または R^6 、 $R^{6'}$ が互いに結合して R^6 、 $R^{6'}$ とでエチレン ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、トリメチレン ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$) を示す。アセタール保護基とし

てはジメチルアセタール (R^6 がメチル)、ジエチルアセタール (R^6 がエチル) などの非環状アセタール、あるいはエチレンアセタール (R^6 がエチレン)、トリメチレンアセタール (R^6 がトリメチレン) などの環状アセタールのいずれでもよいが、なかでもエチレンアセタール、トリメチレンアセタールなどの環状アセタールが好ましく、特にエチレンアセタールが望ましい。具体的

には、メタノール、エタノール、エチレングリコール、トリメチレングリコールなどのアルコールと共に、ベンゼン、トルエン、キシレンなどの芳香族炭化水素系溶媒に一般式 (VII) で示される化合物を溶解後、酸触媒を加え、生じる水を共沸留去しながら加熱撹拌することで得られる。非環状アセタールの場合には、酸触媒存在下、メタノール、エタノールなどのアルコール系溶媒中、オルトギ酸メチル、オルトギ酸エチル、オルト酢酸メチル、オルト酢酸メチルなどのオルトエステルを用いて加熱撹拌しても得ることができる。これらの場合に用いる酸触媒としては通常、塩酸、硫酸、リン酸などの無機酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、カンファースルホン酸などの有機酸が用いられるが、なかでも塩酸、p-トルエンスルホン酸が好ましく、特にp-トルエンスルホン酸が望ましい。反応温度としては20~150℃の範囲が考えられるが、なかでも60~130℃で満足すべき結果が得られる。

【0024】第2工程は、一般式 (IX) で示される化合物の窒素置換基 R^1 がアリルまたはメチルである場合にこれを除去し、塩基の存在下、ウレタンに変換する工程である。具体的には、一般式 (IX) で示される化合物を溶媒に溶解し、塩基及びクロロギ酸2, 2, 2-トリクロロエチルを加えて撹拌することで行われる。塩基としては、クロロギ酸エステルと反応しないような立体障害の大きい置換基を有するアミン、あるいは炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸カルシウム、炭酸バリウムのような無機塩が用いられる。なかでも立体障害の大きい置換基を有するアミンとして、トリエチルアミン、エチルジイソプロピルアミン、コリジン (2, 4, 6-トリメチルピリジン)、プロトンスポンジ [1, 8-ビス (ジメチルアミノ) ナフタレン] などが好ましく用いられ、特にプロトンスポンジが望ましい。溶媒としては、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、1, 2-ジクロロエタンなどのハロゲン系溶媒や、エーテル、THF、DME、ジオキサンなどのエーテル系溶媒が用いられ、なかでもジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、1, 2-ジクロロエタンなどのハロゲン系溶媒が好ましいが、特に1, 2-ジクロロエタンが望ましい。反応温度は-80~80℃の範囲で実行可能であるが、特に-10~30℃で満足すべき結果が得られる。

【0025】第3工程は、一般式 (X) で示されるウレタンの窒素置換基を還元的に除去して二級アミンに変換し、続いて塩基存在下、一般式 (XI) で示される酸ハロゲン化物と反応させ、一般式 (XII) で示されるアミドに変換する工程である。ここで R^1 は炭素数1~4のアルキル、炭素数3~6のシクロアルキル、炭素数4~6のシクロアルケニル、炭素数6~14のアリール、炭素数1~4のアルケニル、2-フラニル、2-チエニルを表し、Xは塩素、臭素、ヨウ素を表す。最初のウレタン

(X) の窒素置換基の除去は、酸触媒存在下、基質を溶媒に溶解し、活性亜鉛末を加えて撹拌することで還元的に除去できる。酸としては塩酸、硫酸、リン酸、硝酸などの無機酸、酢酸、プロピオン酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、カンファースルホン酸などの有機酸が用いられ、溶媒としてはメタノール、エタノール、プロパノール、ブタノールなどのアルコール系溶媒、酢酸、プロピオン酸などの脂肪酸系溶媒、エーテル、THF、DME、ジオキサンなどのエーテル系溶媒、DMF、DMSO、HMPAなどの双極性アプロティック系溶媒が用いられるが、なかでも酢酸、プロピオン酸などの脂肪酸系溶媒が好ましく、通常は酢酸を溶媒と酸触媒とを兼ねて用いることにより十分満足すべき結果が得られる。反応温度は0~50℃の範囲で実行可能であるが、通常は室温で満足すべき結果が得られる。次のアミド化の反応は、前工程で得られた二級アミンを溶媒に溶解し、塩基及び一般式 (XI) で示される酸ハロゲン化物を加えて撹拌することで行われる。塩基としては、トリエチルアミン、エチルジイソプロピルアミン、プロトンスポンジなどの三級アミン、ピルジン、コリジン、イミダゾールなどの芳香族アミンなどが用いられるが、通常はトリエチルアミンで十分満足すべき結果が得られる。溶媒としては、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、1, 2-ジクロロエタンなどのハロゲン系溶媒や、エーテル、THF、DME、ジオキサンなどのエーテル系溶媒、トリエチルアミン、ピリジンなどの塩基を兼ねたアミン系溶媒などが用いられるが、なかでもジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、1, 2-ジクロロエタンなどのハロゲン系溶媒が好ましく、特にジクロロメタンが望ましい。反応温度は-50~80℃の範囲で実行可能であるが、通常は0~30℃の範囲で満足すべき結果が得られる。

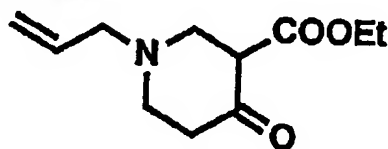
【0026】第4工程は、一般式 (XII) で示される化合物を還元し、一般式 (XIII) で示されるアミンに変換する工程である。具体的には、一般式 (XII) で示される化合物を溶媒に溶解し、還元剤を加えて撹拌することで行われる。還元剤としては、通常用いられる水素化金属類が挙げられるが、なかでも水素化アルミニウムリチウム、水素化ジイソブチルアルミニウム、水素化ホウ素リチウム、水素化ビス (2-メトキシエトキシ) アルミニウムナトリウムが好ましく用いられるが、特に水素化アルミニウムリチウムが望ましい。溶媒としては、エーテル、THF、DME、ジオキサンなどのエーテル系の溶媒が用いられるが、なかでもTHFが好ましい。また、水素化ジイソブチルアルミニウムなどを用いた場合には、上記エーテル系の溶媒に加えて、ヘキサン、ヘプタン、シクロヘキサン、ベンゼン、トルエンなどの炭化水素系溶媒や、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、1, 2-ジクロロエタンなどのハロゲン系溶媒も好ましく用いられるが、なかでもヘキサン、シクロヘキ

サン、トルエン、ジクロロメタンが望ましい。反応温度は $-100 \sim 100^{\circ}\text{C}$ の範囲で実行可能であるが、通常は $-80 \sim 30^{\circ}\text{C}$ の範囲で満足すべき結果が得られる。

【0027】第5工程は、一般式(XIII)で示される化合物を酸触媒と共に溶媒に溶解後、攪拌し、アセタール保護基を脱保護する工程である。酸触媒としては、塩酸、硫酸、リン酸などの無機酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、カンファースルホン酸などの有機カルボン酸、酢酸、プロピオン酸などの有機カルボン酸などが挙げられるが、通常は塩酸で十分満足すべき結果が得られる。溶媒としては、エーテル、THF、DME、ジオキサンなどのエーテル系溶媒、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、1,2-ジクロロエタンなどのハロゲン系溶媒などと水との混合溶媒系が用いられるが、通常はTHF-水、ジオキサン-水の混合溶媒系で十分満足すべき結果が得られる。反応温度は $-50 \sim 100^{\circ}\text{C}$ の範囲で実行可能であるが、通常は $0 \sim 50^{\circ}\text{C}$ の範囲で満足すべき結果が得られる。

【0028】第6工程は、一般式(VII')で示される化合物に対して、酸触媒存在下、フェニルヒドラジン誘導体(VIII)を用いた Fischer インドール合成の工程である。一般式(VIII)において、 R^1 、 R^2 、 R^4 は前記定義と同じである。反応条件は、前記チャート1の第4工程と同じである。

【0029】一般式(II)で表される本発明の化合物*



2

【0033】3-エトキシカルボニル-4-ピペリドン 4.46 g (26.1 mmol) を無水DMF 30 ml に溶解し、臭化アリル 2.37 ml (27.4 mmol)、炭酸水素ナトリウム 3.28 g (39.1 mmol) を加え、室温で1時間攪拌した。水 100 ml を加えてエーテル300 ml で抽出し、有機層を水 2×50 ml で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。得られた油状物をカラムクロマトグラフィー [シリカゲル 200 g; クロロホルム] で分離精製すると、標題化合物 2.13 g (収率39%) が得られた。

【0034】NMR (90 MHz, CDCl_3) δ 1.28 (3H, t, $J=7.3$ Hz), 2.7-3.6 (8.3H, m), 4.22 (2H, q, $J=7.3$ Hz), 6.2 (1H, m), 12.00 (0.7H, br s) IR (液膜) λ 3082, 1737, 1720, 1661, 1624, 1307, 1230, 996, 922 cm^{-1}

【0035】

参考例2

2-アリル-6-オキソ-1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 8a-オクタヒドロイソキノリン 3

*は、in vitro, in vivo における免疫抑制活性試験の結果、臓器移植、皮膚移植、自己免疫疾患などに使用できる免疫抑制剤として期待できることが明らかとなった。本発明の免疫抑制剤を臨床に使用する際には、フリーの塩基またはその塩自体でもよく、また安定剤、緩衝剤、希釈剤、等張剤、防腐剤などの賦形剤を適宜混合してもよい。剤型としては注射剤、カプセル剤、座薬、経口剤など、種々の形態のものが用いられる。本発明の免疫抑制剤は、上記有効成分を1~90重量%、より好ましくは30~70重量%含有することが望ましい。また、本発明の免疫抑制剤の投与量は、投与対象、投与方法、症状などに応じて適宜選択されるが、有効成分として、注射剤の場合には0.001~1 g/日の範囲で、経口剤の場合には0.01 ~ 10 g/日の範囲で投与される。

【0030】

【実施例】以下、参考例、実施例を挙げて本発明の化合物の製造法及び薬理作用を更に具体的に説明するが、もちろん本発明の製造法は、これらに限られるものではない。

【0031】

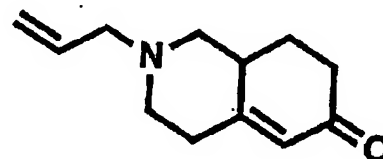
参考例1

1-アリル-3-エトキシカルボニル-4-ピペリドン

2

【0032】

【化8】



3

【0037】アルゴン気流下、1-アリル-3-エトキシカルボニル-4-ピペリドン 2.13 g (10.1 mmol) を無水トルエン 15 ml に溶解し、60%水素化ナトリウム 2.02 mg (0.50 mmol)、メチルビニルケトン 0.99 ml (12 mmol) を加え、室温で15分間攪拌した。反応混合物を飽和食塩水で洗浄し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。

【0038】こうして得られた粗1, 4-付加体 2.83 g に、アルゴン気流下、水酸化カリウム 0.33 g の

17

水 (3 ml) 溶液を加え、1.5 時間還流した後、更に水酸化カリウム 0.75 g の水 (3 ml) 溶液を加え、2.5 時間還流した。室温に放冷後、クロロホルム 2×30 ml で抽出し、有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。得られた油状物をカラムクロマトグラフィー [シリカゲル 150 g; クロロホルム→クロロホルム-メタノール (50:1)] で分離精製すると、標題化合物 1.21 g (収率 63%) が得られた。

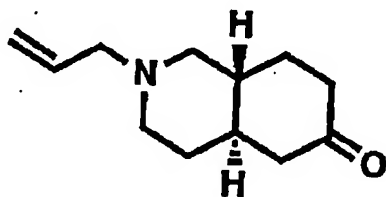
【0039】*n*-ペンタンより再結晶するとプリズム状品 190 mg (収率 10%) が得られた。

【0040】mp 24.5~26.0°C (ペンタン) NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.54-1.66 (1H, m), 1.73 (1H, dd, J=11.0, 11.0 Hz), 1.96-2.08 (2H, m), 2.28-2.47 (3H, m), 2.53-2.67 (2H, m), 2.99-3.14 (4H, m), 5.15-5.25 (2H, m), 5.84-5.87 (1H, m), 5.88 (1H, dddd, J=17.0, 10.3, 6.6, 6.6 Hz) IR (液膜) λ 3080, 1673, 1628, 1129, 926 cm⁻¹ Mass (EI) m/z 191 (M⁺) 元素分析値 C₁₄H₁₇N₁O₁ として計算値 C, 75.35; H, 8.96; N, 7.32 実測値 C, 75.21; H, 8.93; N, 7.32

【0041】参考例3

2-アリル-6-オキソ-1, 2, 3, 4, 4aα, 5, 6, 7, 8, 8aβ-デカヒドロイソキノリン 4

【化10】



4

【0043】素素気流下、-78°Cで溜めた液体アンモニア約 120 ml に金属リチウム 435 mg (6.26 mmol) を加え、-33°Cに昇温して還流させた後、2-アリル-6-オキソ-1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 8a-オクタヒドロイソキノリン 3.02 g (1.58 mmol) の無水THF 15 ml 溶液を加え、還流下、1時間攪拌した。-78°Cに冷却後、塩化アンモニウム 16.7 g (31.2 mmol) をゆっくりと加え、室温まで昇温して液体アンモニアを留去した。反応残渣に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液100 ml, 水 30 ml を加えてクロロホルム 3×100 ml で抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。得られた油状物 3.3 g をカラムクロマトグラフィー [シリカゲル 250g; ベンゼン-アセトン (2:1 → 1:3) → アセトン] で分離精製すると、標題化合物 2.23 g (収率 73%) が得られた。

【0044】mp <25°C (ペンタン) NMR (400 MHz

18

z, CDCl₃) δ 1.26-1.52 (3H, m), 1.59-1.74 (3H, m), 1.88-1.95 (2H, m), 2.10 (1H, dd, J=13.3, 13.3 Hz), 2.31-2.45 (3H, m), 2.94-3.07 (4H, m), 5.14-5.22 (2H, m), 5.89 (1H, dddd, J=16.8, 10.4, 6.7, 6.7 Hz) IR (液膜) λ 3080, 1715, 1644, 1203, 998, 922 cm⁻¹ Mass (EI) m/z 190 (M⁺), 166

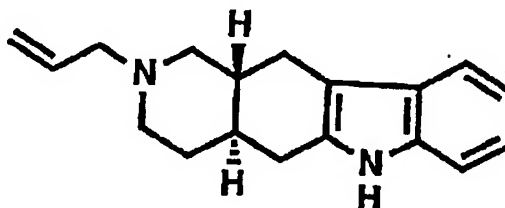
【0045】実施例1

2-アリル-1, 2, 3, 4, 4aα, 5, 11, 11aβ-オクタヒドロ-6H-ピリド [4, 3-b] カル

10 バゾール 1

【0046】

【化11】



1

20

【0047】2-アリル-6-オキソ-1, 2, 3, 4, 4aα, 5, 6, 7, 8, 8aβ-デカヒドロイソキノリン 144 mg (0.743 mmol) をエタノール 2.9 ml に溶解し、フェニルヒドラジン 0.077 ml (0.78 mmol), メタンスルホン酸 0.12 ml (1.9 mmol) を加え、1.2 時間還流した。室温まで放冷し、析出した結晶を濾過してエタノールで洗浄した後、得られた粗結晶 228 mg をエタノールより再結晶すると、標題化合物のメタンスルホン酸塩 191 mg (収率 71%) が得られた。

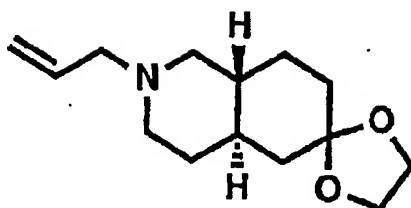
30

【0048】mp >263°C (分解, エタノール) NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 1.54-1.68 (1H, m), 1.73-1.83 (1H, m), 1.84-1.98 (1H, m), 2.10 (1H, br d, J=12.7 Hz), 2.25 (1H, br dd, J=13.7, 12.2 Hz), 2.32 (3H, s), 2.42 (1H, dd, J=16.1, 11.2 Hz), 2.79 (1H, dd, J=14.7, 4.9 Hz), 2.84-3.03 (3H, m), 3.50 (1H, br d, J=12.2 Hz), 3.57 (1H, br d, J=10.7 Hz), 3.76-3.80 (2H, m), 5.53-5.59 (2H, m), 5.93 (1H, m), 6.93 (1H, dd, J=7.8, 6.8 Hz), 7.00 (1H, dd, J=7.3, 6.8 Hz), 7.26 (1H, d, J=7.8 Hz), 7.32 (1H, d, J=7.3 Hz), 9.53 (1H, br s), 10.74 (1H, s) IR (KBr) λ 3230 (br), 2704 (br), 1626, 1466, 1210, 1040, 966 cm⁻¹ Mass (FAB) m/z 267 (M+H⁺) 元素分析値 C₁₈H₂₂N₂·CH₃SO₃H としての計算値: C, 62.96; H, 7.23; N, 7.73; S, 8.85 実測値: C, 62.84; H, 7.24; N, 7.75; S, 8.91

【0049】参考例4

2-アリル-6, 6-エチレンジオキシ-1, 2, 3, 4, 4aα, 5, 6, 7, 8, 8aβ-デカヒドロイソキノリン 5

[0050]
[化12]



5

【0051】2-アリル-6-オキソ-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 6, 7, 8, 8a β -デカヒドロイソキノリン 1.86 g (9.60 mmol) をベンゼン 40 ml に溶解し、エチレングリコール 0.80 ml (14 mmol)、p-トルエンスルホン酸-水和物 2.10 g (11.0 mmol) を加え、生じる水を共沸留去しながら 1.5 時間還流した。室温に放冷後、1.5 Nアンモニア水 45 ml を加えて分液し、水層をクロロホルム 2 \times 40 ml で抽出し、有機層を合わせて無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。得られた油状物 2.4 g をカラムクロマトグラフィー [シリカゲル 60 g ; 酢酸エチル-メタノール-アンモニア水 (300:5:1 \rightarrow 100:5:1)] で分離精製すると、標題化合物 2.18 g (収率 95%) が得られた。ペンタンより再結晶すると、針状晶 1.09 g (収率 48%) が得られた。

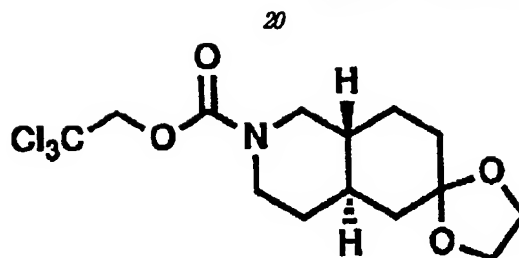
【0052】mp 39.0-40.0 $^{\circ}\text{C}$ (ペンタン) NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.16-1.48 (5H, m), 1.52-1.62 (3H, m), 1.68-1.81 (3H, m), 1.90 (1H, ddd, J=11.7, 11.7, 2.4 Hz), 2.85 (1H, br d, J=11.2 Hz), 2.92-3.07 (3 H, m), 3.92-3.98 (4H, m), 5.11-5.19 (2H, m), 5.88 (1H, dddd, J=16.6, 10.3, 6.8, 6.8 Hz) IR (KBr) λ 3082, 1640, 1096, 919 cm^{-1} Mass (EI) m/z 237 (M^+), 210, 192 元素分析値 $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_1\text{O}_2$ としての計算値: C, 70.60; H, 9.77; N, 5.90 実測値: C, 70.60; H, 9.68; N, 6.00

【0053】参考例 5

6, 6-エチレンジオキシ-2-(2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル)-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 6, 7, 8, 8a β -デカヒドロイソキノリン 6

[0054]

[化13]



6

10 【0055】アルゴン気流下、2-アリル-6, 6-エチレンジオキシ-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 6, 7, 8, 8a β -デカヒドロイソキノリン 1.94 g (8.18 mmol)、プロトンスポンジ 2.63 g (12.3 mmol) を無水 1, 2-ジクロロエタン 40 ml に溶解し、クロロギ酸 2, 2, 2-トリクロロエチル 1.25 ml (9.05 mmol) を加え、室温で 40 分間攪拌した。1 N塩酸 40 ml を加えて分液し、水層をジクロロエタン 2 \times 40 ml で抽出し、有機層を合わせて無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。得られた油状物 3.6 g をカラムクロマトグラフィー [シリカゲル 70 g ; ヘキサン-酢酸エチル (4:1 \rightarrow 2:1)] で精製すると、標題化合物 2.94 g (収率 97%) が得られた。エーテルより再結晶すると、板状晶 2.29 g (収率 75%) が得られた。

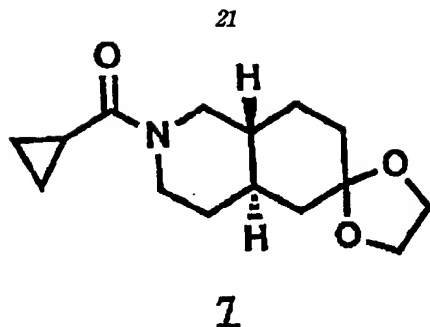
30 【0056】mp 113.5-115.0 $^{\circ}\text{C}$ (エーテル) NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.12-1.34 (4H, m), 1.40-1.68 (4H, m), 1.72 (1H, ddd, J=12.7, 2.9, 2.9 Hz), 1.81 (1H, br dd, J=13.2, 2.9 Hz), 2.44 (0.5H, br dd, J=12.2, 12.2 Hz), 2.53 (0.5H, br dd, J=12.2, 12.2 Hz), 2.77 (0.5H, brdd, J=13.2, 13.2 Hz), 2.85 (0.5H, br dd, J=13.2, 13.2 Hz), 3.92-3.99 (4H, m), 4.15 (1H, ddd, J=13.2, 3.9, 2.0 Hz), 4.26 (1H, br d, J=13.2 Hz), 4.68-4.80 (2H, m) IR (KBr) λ 1709, 1433, 1212, 1125, 843, 716 cm^{-1} Mass (EI) m/z 375 (M^+ +4), 373 (M^+ +2), 371 (M^+), 99 元素分析値 $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{Cl}_3\text{N}_1\text{O}_4$ としての計算値: C, 45.12; H, 5.41; Cl, 28.54; N, 3.76 実測値: C, 45.10; H, 5.43; Cl, 28.50; N, 3.80

【0057】参考例 6

2-シクロプロピルカルボニル-6, 6-エチレンジオキシ-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 6, 7, 8, 8a β -デカヒドロイソキノリン 7

[0058]

[化14]



【0059】6, 6-エチレンジオキシ-2-(2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル)-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 6, 7, 8, 8a β -デカヒドロイソキノリン 2.66 g (7.14 mmol) を酢酸 50ml に溶解し、活性亜鉛末 2.34 g (35.8mmol) を加え、室温で 1.7 時間激しく攪拌した。反応混合物をハイフろスーパーセルを用いて濾過し、残渣をクロロホルム-エタノール (3:1) 混合液で洗浄した。濾液、洗液を合わせて濃縮し、得られた残渣に 3Nアンモニア水 30 mlを加えてクロロホルム-エタノール (3:1) 混合液 3 \times 30 ml で抽出し、有機層を合わせて無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。

【0060】こうして得られた粗二級アミン 1.54 g を、アルゴン気流下、無水ジクロロメタン 30 ml に溶解し、トリエチルアミン 1.49 ml (10.7 mmol) を加えた後、氷冷下、塩化シクロプロピルカルボニル 0.77 ml (8.5 mmol) を加え、室温で 35 分間攪拌した。1N塩酸30 ml を加えて分液し、水層をジクロロメタン 2 \times 30 ml で抽出し、有機層を合わせて無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。得られた粗結晶 2.0 g をカラムクロマトグラフィー [シリカゲル 60 g ; ヘキサン-酢酸エチル (2:1 \rightarrow 1:1 \rightarrow 1:2)] で分離精製すると、標題化合物 1.70 g (収率 90%) が得られた。酢酸エチル-ヘキサンより再結晶すると、針状晶 1.61 g (収率 85%) が得られた。

【0061】mp 110.5-111.5 $^{\circ}\text{C}$ (酢酸エチル-ヘキサン) NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.72-0.75 (2H, m), 0.94-0.98 (2H, m), 1.06-1.38 (4H, m), 1.45-1.85 (7H, m), 2.20 (0.5H, br dd, $J=12.2, 12.7$ Hz), 2.51 (0.5H, br dd, $J=12.7, 12.7$ Hz), 2.73 (0.5H, br dd, $J=12.2, 12.2$ Hz), 3.06 (0.5H, br dd, $J=12.7, 12.7$ Hz), 3.95-3.99 (4H, m), 4.12 (0.5H, br d, $J=12.2$ Hz), 4.24 (0.5H, br d, $J=12.7$ Hz), 4.58 (0.5H, br d, $J=12.2$ Hz), 4.68 (0.5H, br d, $J=12.7$ Hz) IR (KBr) λ 3084, 1618, 1454, 1224, 1085 cm^{-1} Mass (EI) m/z 365 (M^+), 220 元素分析値 $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{N}_1\text{O}_2$ としての計算値: C, 67.90; H, 8.74; N, 5.28 実測値:

22

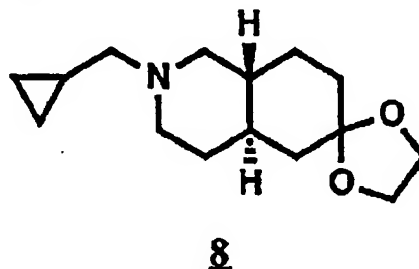
C, 67.70; H, 8.63; N, 5.22

【0062】参考例7

2-シクロプロピルメチル-6, 6-エチレンジオキシ-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 6, 7, 8, 8a β -デカヒドロイソキノリン 8

【0063】

【化15】



【0064】アルゴン気流下、水素化アルミニウムリチウム 714 mg (18.8 mmol) を無水THF 45 ml に懸濁させ、氷冷下、2-シクロプロピルカルボニル-6, 6-エチレンジオキシ-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 6, 7, 8, 8a β -デカヒドロイソキノリン 1.67 g (6.28 mmol) の無水THF 15 ml 溶液を滴下し、室温で 35 分間攪拌した。フッ化ナトリウム 7.89 g (188 mmol) を加え、氷冷下、THF-水 (10:1) 混合液 37.0 ml をゆっくりと滴下した後、室温で約1時間攪拌した。反応混合物をハイフろスーパーセルを用いて濾過し、残渣を酢酸エチルで洗浄し、濾液、洗液を合わせて濃縮した。得られた油状物 1.6 g をカラムクロマトグラフィー [シリカゲル 40 g ; 酢酸エチル-メタノール-アンモニア水 (100:5:1 \rightarrow 50:5:1)] で精製すると、標題化合物 1.39 g (収率 88%) が得られた。

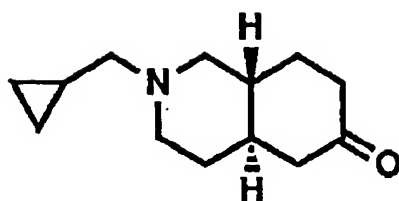
【0065】NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.07-0.12 (2H, m), 0.48-0.53 (2H, m), 0.82-0.92 (1H, m), 1.16-1.42 (5H, m), 1.52-1.65 (4H, m), 1.71 (1H, ddd, $J=12.2, 2.9, 2.9$ Hz), 1.76-1.81 (1H, m), 1.92 (1H, ddd, $J=11.7, 11.7, 2.9$ Hz), 2.18-2.27 (2H, m), 2.99 (1H, br d, $J=10.7$ Hz), 3.06-3.11 (1H, m), 3.92-3.98 (4H, m) IR (液膜) λ 3080, 1098, 1083 cm^{-1} Mass (EI) m/z 251 (M^+), 210, 206

【0066】参考例8

2-シクロプロピルメチル-6-オキソ-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 6, 7, 8, 8a β -デカヒドロイソキノリン 9

【0067】

【化16】



2

【0068】2-シクロプロピルメチル-6,6-エチレンジオキシ-1,2,3,4,4a α ,5,6,7,8,8a β -デカヒドロイソキノリン 1.36 g (5.39 mmol) を1,4-ジオキサン 21 ml に溶解し、3N塩酸 7.0 ml を加え、室温で 6.0 時間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 80 ml を加えてクロロホルム-エタノール (3:1) 混合液 3 \times 80 ml で抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濃縮した。得られた油状物 1.2 g をカラムクロマトグラフィー [シリカゲル 60 g; 酢酸エチル-メタノール-アンモニア水 (100:5:1 \rightarrow 40:5:1)] で分離精製すると、標題化合物 1.11 g (収率 99%) が得られた。

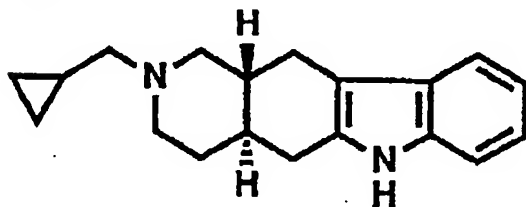
【0069】NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.09-0.13 (2H, m), 0.50-0.55 (2H, m), 0.84-0.93 (1H, m), 1.28-1.55 (3H, m), 1.62-1.77 (2H, m), 1.89-1.98 (3H, m), 2.11 (1H, dd, J=13.7, 13.7 Hz), 2.24-2.30 (2H, m), 2.31-2.46 (3H, m), 3.08-3.13 (2H, m) IR (液膜) λ 3080, 1717, 1210, 1102 cm⁻¹ Mass (EI) m/z 207 (M⁺), 179, 166

【0070】実施例2

2-シクロプロピルメチル-1,2,3,4,4a α ,5,11,11a β -オクタヒドロ-6H-ピリド [4,3-b]カルバゾール 10

【0071】

【化17】



10

【0072】2-シクロプロピルメチル-6-オキソ-1,2,3,4,4a α ,5,6,7,8,8a β -デカヒドロイソキノリン 786 mg (3.79 mmol) をエタノール 14 ml に溶解し、フェニルヒドラジン 0.39 ml (3.8 mmol), メタンスルホン酸 0.52 ml (8.0 mmol) を加え、1.5 時間還流した。室温まで放冷し、析出した結晶

を濾過してエタノールで洗浄した後、得られた粗結晶 1.15 g をエタノールより再結晶すると、標題化合物のメタンスルホン酸塩 927 mg (収率 65%) が得られた。

【0073】mp >240 $^{\circ}$ C (分解, エタノール) NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 0.39-0.44 (2H, m), 0.65-0.71 (2H, m), 1.09-1.17 (1H, m), 1.63-1.72 (1H, m), 1.75-1.83 (1H, m), 1.93-2.02 (1H, m), 2.08-2.12 (1H, m), 2.26 (1H, br dd, J=12.8, 12.8 Hz), 2.32 (3H, s), 2.42 (1H, br dd, J=16.5, 10.9 Hz), 2.80 (1H, d, J=15.3, 4.9 Hz), 2.89-2.95 (1H, m), 2.88 (1H, d, J=16.5, 4.9 Hz), 2.99-3.06 (3H, m), 3.62 (1H, br d, J=11.6 Hz), 3.70 (1H, br d, J=12.2 Hz), 6.94 (1H, dd, J=7.9, 7.9 Hz), 7.00 (1H, dd, J=7.9, 7.9 Hz), 7.26 (1H, d, J=7.9 Hz), 7.33 (1H, d, J=7.9 Hz), 9.28 (1H, br s), 10.74 (1H, s) IR (KBr) λ 3230 (br), 2712 (br), 1638, 1460, 1218, 1166, 1042 cm⁻¹ Mass (FAB) m/z 281 (M+H)⁺ 元素分析値 C₁₉H₂₄N₂ \cdot CH₃SO₃H としての計算値: C, 63.80; H, 7.50; N, 7.44; S, 8.52 実測値: C, 63.62; H, 7.51; N, 7.54; S, 8.52

【0074】実施例3

Con A 刺激によるマウスT細胞増殖抑制試験無菌的にマウスより脾臓を摘出し、メッシュを通して単細胞浮遊液とした。この浮遊液を 5 \times 10⁶ /ml に調整し、その 100 μ l を 96 穴プレートの各 Well にまいた。脾細胞をまいたプレートにマイトोजェンのコンカナバリンA (Con A) [ファルマシア社製] (1 μ g/ml) を 50 μ g/well 及び各濃度の被験化合物を 50 μ g/well 加え、37 $^{\circ}$ C の CO₂ インキュベーター内で 48 時間培養した。培養終了 8 時間前に [³H]-チミジン 2 μ Ci/10 μ g/well を添加した。培養終了後、セルハーベスターで濾紙上に細胞を捕集し、乾燥後トルエン系シンチレーターを加え、液体シンチレーションカウンターで細胞に取り込まれた [³H]-チミジンの放射能を測定した。T細胞増殖抑制率は、次式に従って算出した。

【0075】

【数1】

T細胞増殖抑制率 (%) =

$$\frac{(\text{化合物非添加時の放射能}) - (\text{化合物添加時の放射能})}{(\text{化合物非添加時の放射能}) - (\text{Con A 非添加時の放射能})} \times 100$$

【0076】表1に本発明の主な化合物、2-アリル-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 11, 11a β -オクタヒドロ-6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾール: 1, 2-シクロプロピルメチル-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 11, 11a β -オクタヒドロ-6H-ピリド*

* [4, 3-b] カルバゾール: 10の Con A 刺激によるマウスT細胞増殖抑制率を記載した。

【0077】

【表1】

表1

被験化合物濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	Con A 刺激による T細胞増殖抑制率 (%)	
	1	10
0.1	0(+14)	-
0.5	0(+4)	0(+46)
0.75	0(+8)	0(+63)
1.0	0(+15)	0(+13)
2.5	0(+7)	48
5.0	12	82
7.5	34	90
10.0	51	100
12.5	66	-
15.0	92	100
17.5	96	-
20.0	100	-
IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	9.9	3.2

カッコ内の数値は、増強傾向にあった群の増強率を示す

【0078】表1に示すように、本発明の化合物、2-アリル-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 11, 11a β -オクタヒドロ-6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾール: 1, 2-シクロプロピルメチル-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 11, 11a β -オクタヒドロ-6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾール: 10 は、ConA 刺激によるマウスT細胞増殖抑制作用を有することが明らかとなった。

【0079】実施例4

マウスリンパ球混合反応 (MLR) におけるT細胞増殖抑

制試験無菌的に Balb/c マウスより脾臓を摘出し、単細胞浮遊液とした。この浮遊液にマイトマイシンC (MMC) (協和醗酵工業株式会社製) を添加し (終濃度 50 $\mu\text{g/ml}$)、37℃で 30 分間培養した。培養後、3回洗浄を行い、 1×10^7 cells/mlに調製した。96 穴マイクロプレートの各Well にC57BL/6 マウスの脾細胞浮遊液 100 μl (5×10^5 cells 含有)、Balb/c マウスの脾細胞浮遊液 50 μl (5×10^5 cells 含有)、及び各濃度の被験化合物溶液 50 μl を添加し、37℃のCO₂ インキュベーター内で 72 時間培養した。培養終了 8 時間前に [³H]

ーチミジン 2 μ Cl を添加した。培養終了後、セルハーベスターで濾紙上に細胞を捕集し、乾燥後トルエン系シンチレーターを加え、液体シンチレーションカウンターで細胞に取り込まれた [3 H]-ーチミジンの放射能を測定*

T細胞増殖抑制率 (%) =

(対照群の放射能) - (実験群の放射能)

(対照群の放射能) - (MMC 処理 Balb/c 放射能 + C57BL/6 放射能)

x100

【0081】表2に本発明の主な化合物、2-アリル-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 11, 11a β -オクタヒドロ-6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾール: 1, 2-シクロプロピルメチル-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 11, 11a β -オクタヒドロ-6H-ピリド*

※ [4, 3-b] カルバゾール: 10 の MLR におけるマウスT細胞増殖抑制率を記載した。

【0082】

【表2】

表2

MLR における T細胞増殖抑制率 (%)			
被験化合物濃度 (μ g/ml)	1	被験化合物濃度 (μ g/ml)	10
0.1	39	0.1	48
0.5	62	1.0	77
0.75	66	2.0	87
1.0	70	3.0	99
2.5	89	4.0	100
5.0	100	5.0	100
7.5	100	10.0	100
10.0	100	15.0	100
15.0	100		
20.0	100		
IC ₅₀ (μ g/ml)	0.3	IC ₅₀ (μ g/ml)	0.2

【0083】表2に示すように、本発明の化合物、2-アリル-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 11, 11a β -オクタヒドロ-6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾール: 1, 2-シクロプロピルメチル-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 11, 11a β -オクタヒドロ-6H-ピリド [4, 3-b] カルバゾール: 10 は、MLR におけるマウスT細胞増殖抑制作用を有することが明らかとなった。

【0084】実施例5

マウス遅延型過敏症 (DTH) 反応抑制試験BDF1 マウス 50

(雌性、8 週齢) に、メチル化ウシ血清アルブミン (MB SA) 水溶液 (販売元 シグマ社) (2 mg/ml) 及び Freund 不完全アジュバントの等量混合エマルジョン (2 mg/ml MB SA水溶液とFreund不完全アジュバンド (DIFCO社製) を等量混合し、攪拌してエマルジョンとしたもの) 0.1 ml を、背部皮下投与することにより抗原感作を行い (day 1)、同日から被験化合物を 10 mg/kg/day の用量により1日1回、8日間連続経口投与を行った。対照群として、基剤として用いた 10%DMSO 液を同様に投与した。比較のため、シクロスポリンA

(サンド社製)を60 mg/kg/day の用量により1日1回、8日間連続経口投与を行った。この場合の対照群として、基剤として用いたオリーブ油を同様に投与した。Day 8にMBSA水溶液(1 mg/ml)の20 μ lを左側後肢足底に皮下投与し、DTH反応を惹起させた。右側後肢*

*足底には水溶液のみを同量、皮下投与した。Day 9にマウスの左右後肢膝窩リンパ節を摘出し、その質重量を測定した。DTH反応抑制率は、次式によって算出した。

【0085】

【数3】

マウス DTH 反応抑制率 (%) =

(投与群の左右後肢膝窩リンパ節の湿重量差)

x 100

(対照群の左右後肢膝窩リンパ節の湿重量差)

【0086】表3に本発明の主な化合物、2-シクロプロピルメチル-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 11, 11a β -オクタヒドロ-6H-ピリド[4, 3-b]カルバゾール: 10 とシクロスポリンAのマウス DTH ※

※反応抑制率を記載した。

【0087】

【表3】

表3

被検化合物	投与経路	投与量	DTH 反応抑制率
10	皮下投与	10 mg/kg	48%
シクロスポリン A	経口投与	60 mg/kg	56%

【0088】表3に示すように、本発明の化合物、2-シクロプロピルメチル-1, 2, 3, 4, 4a α , 5, 11, 11a β -オクタヒドロ-6H-ピリド[4, 3-b]カルバゾール: 10 は、シクロスポリンAと同等以上のマウス DTH 反応抑制作用を有することが明らかとなった。

【0089】

【発明の効果】本発明の化合物は、in vitro, in vivo における免疫抑制活性試験において優れた活性を示し、臓器移植、皮膚移植の際の拒絶反応を抑制するための免疫抑制剤として大いに期待できる。また、本発明の化合物の製造方法によれば、安価、簡単な操作かつ高収率で免疫抑制剤を提供することが可能であり、工業的な大量生産を行うことができるようになる。

フロントページの続き

(72)発明者 松本 修

神奈川県鎌倉市手広1111番地 東レ株式会社
基礎研究所内